ChinaXiv合作期刊

综述

生物3D打印的研究进展

王锦阳，黄文华
南方医科大学基础医学院人体解剖教研室//广东省生物力学重点实验室，广东 广州 510515

摘要：3D打印技术是基于计算机三维数字成像技术及多层次连续打印的一种新兴应用技术。生物3D打印技术则是基于3D打印的基础上，以活细胞为原料结合生物材料、生命体材料的拓展延伸，打印活体组织与器官的一种技术。生物3D打印技术已在再生医学及器官移植方面取得了一定的成果，被应用于骨骼、皮肤、人造血管、心脏组织等再生与重建领域。本文主要从生物3D打印技术的方式及特点，生物3D打印技术的研究现状与应用，生物3D打印的发展前景的展望等几个方面进行简要的综述。
关键词：生物3D打印；研究现状；应用领域

Research status and application of 3D bio-printing

WANG Jinyang, HUANG Wenhua
Department of Anatomy, National Key Discipline, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: 3D print is a new applied technology that based on the computer three-dimensional digital imaging technology and multi-level continuous printing. 3D bio-printing is based on 3D print, which is the extension of living cells combine with biological materials and life materials to print living tissues and organs. 3D bio-printing has made some achievements in the field of regenerative medicine. It has been used in the regeneration and reconstruction of the bone, skin, blood vessel, cardiac tissue, etc. In this paper, a brief review was made of the types and features of 3D bio-printing, the research status and application of 3D bio-printing and the development prospects of this technology, ect.
Key words: bio-3D printing; research status; application fields

当前，被誉为"第3次工业革命的重要标志之一"的3D打印，正发展成为医学工程中的一项热门研究技术，其相关研究在国内外掀起了一波新的发展热潮。生物3D打印是3D打印技术的一个分支，是目前3D打印技术研究的最前沿领域，也是3D打印技术中最具活力和发展前景的方向[1]。生物3D打印是生命科学、材料科学、制造科学交叉融合的新兴产物，在生物体外构建具有一定生物功能的组织和器官，用于病损组织和器官的修复与替代[2]。这个新技术通过解决了传统医学问题中的瓶颈问题而备受关注，大幅提高医学发展水平，成为令人瞩目的生命科学前沿。本文主要从生物3D打印技术的方式及特点、生物3D打印的研究现状、生物3D打印的应用于生物3D打印的发展前景几个方面展开简要综述。

1 3D打印技术和生物3D打印技术概述

3D打印技术，又称3D快速成型技术或增材制造技术，是20世纪80年代后期开始逐渐兴起的一项制造技术，它以数字化、网络化、个性化、定制化为特点，被认为是推动第3次工业革命的核心技术，目前已被各国作为战略化新兴产业大力发展[3]。3D打印技术是将物体的CT成像数据或计算机辅助设计（CAD）模型数据，以STL格式文件输入计算机系统中，分成若干层二维平面数据，通过计算机控制的3D打印系统使激光束按照计算机指定路径扫描，按照"分层制造，逐层叠加"的原理，将打印材料材料在激光产生的高温下熔融后立即固化，固化的材料逐层叠加打印，最终获得与原型相一致的三维产品的新型数字化成型技术[4]。由于3D打印技术可以制造出传统技术无法完成的结构，开辟了巨大的数字设计空间，却不增加制造的时间与成本，因此成为科技新焦点并吸引了全球的目光。然而，在生物医学领域内，目前已采用生物3D打印技术制造出骨骼、皮肤、血管、肾脏等人体器官。生物3D技术是以计算机三维模型为基础，通过离散-堆积的方法，将生物材料或细胞按仿生形态、生物体功能、细胞特定微环境等要求，用增材制造法打印出同时具有复杂结构与功能的生物三维结构、体外三维生物功能体、再生医学模型等生物医学产品的3D打印技术，该技术在生命科学领域的应用日益广泛，现已成为21世纪最具发展潜力的前沿技术之一。

收稿日期：2015-12-01
基金项目：广东省科技计划项目（2014B090901055）；广东省科技计划项目（2015B010125005）
作者简介：王锦阳，在读博士研究生，E-mail: wangjinyang327@aliyun.com
通信作者：黄文华，教授，电话：020-61648181，E-mail: Hwh@fimmu.com

chinaXiv:201712.00600v1

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201712.00600v1

2 生物3D打印技术的方式和特点

2.1 喷墨生物打印

喷墨式打印机的原理是,依靠声波或热使得生物材料液滴滴落而成型。声波喷墨打印机用声辐射力量与超声波场把液滴从气液界面喷射出,通过控制超声参数以控制液滴的大小与滴出速率,其优点是避免了热与压力对生物材料的影响,同时可控制液滴的大小、并避免了喷口的堵塞,缺点是对打印的材料黏度有一定的限制;热喷墨打印机运行依靠电加热打印头,产生压力脉冲而使液滴离开喷嘴,其优点为打印速度快、成本低、应用广泛,但在打印过程中会使细胞与生物材料承受热与机械应力,并且其喷头易被堵塞、液滴方向性不明显、液滴大小不均匀等[5]。不难看出,喷墨生物打印的局限性是生物材料必须以液态形式存在,才能形成液滴。

2.2 微挤压成型生物打印

微挤压成型生物打印的工作原来是,将热熔性材料通过加热器熔化,材料先抽成丝状,通过送丝机送进热熔喷头,在喷头内被加热融化,喷头沿零件截面轮廓和填充轨迹运动,同时将半流动状态的材料按CAD分层数据控制的路径,挤出并沉积在指定的位置凝固成形,并与周围的材料粘接,层层堆积成型[5]。该技术的缺点是,打印出的细胞存活率低,限制了其在再生医学组织构建方面的应用。

2.3 激光辅助生物打印

激光辅助生物打印机(LAB)的工作原理是,在玻璃板吸收层上用激光聚焦产生一个高压液泡,将带有细胞的材料推到接受基体上,其优点是喷头为开放式,不存在喷头堵塞的问题,同时对细胞伤害小,细胞存活率高达95%以上,缺点为价格较高,限制了其临床应用[6]。

3 生物3D打印技术的研究现状

3.1 生物3D打印技术在国外的发展

目前,生物3D打印技术在国外发展迅速,得到制造、生物科学等领域科研人员的重点关注。2009年,韩国浦项科技大学的Lee等[7]在生物制造领域使用微型SLA技术生产组织支架。英国诺丁汉大学教授Sawkins等[8]利用细胞和蛋白兼容生物3D打印技术制造出机械性强度的结构用于骨修复。哈佛大学工程与应用学院教授Kolesky等[9]基于生物3D打印技术构造出异构细胞结构的血管。美国大力加强生物3D打印技术的研发,如:三维乳房癌组织测试系统的研究、细胞打印应用于创面修复的研究、基于细胞组装的集成微肝脏模拟壮志的研究等[10]。麻省理工学院(MIT)、美国德雷赛尔大学(Drexel)等研究机构在细胞3D打印、器官打印等领域专注研究。部分医疗研究机构及公司利用生物3D打印技术打印出动脉、心肌组织、肺脏、肾脏等人体器官。Lee[11]科研组制备了内径1 mm的3D打印水凝胶管道模型,成功诱导周围毛细血管形成了微血管床。Koch等[12]研究证实了将负载成纤维细胞与角化细胞的胶原为原料,经3D打印技术用于皮肤组织再生的可行性。

3.2 生物3D打印技术在国内的发展

国内的生物3D打印技术发展势头迅猛,接近国际水平。来自杭州电子科技大学徐铭恩团队自主研发出一台生物材料3D打印机,目前已在这台打印机上成功打印出较小比例的人类耳朵软骨组织、肝单元等[13]。该研究成果被国际顶尖期刊Biomaterials评为2012年在生物3D打印领域的最高水平。中国台北国立台湾大学分子科学与工程学院的Hsieh等[14]利用温敏生物材料载神经干细胞结合生物3D打印技术在中枢神经系统修复的应用。清华大学徐弢等[15]利用心肌细胞和生物材料模拟打印了动物心脏。发现打印出的细胞能够有节奏地跳动,提示打印出的器官可以具有一定的功能,还将羊水中提取的干细胞进行3D打印,并加入骨系分化因子,获得了活性的骨组织。同时,千人计划国家特聘专康裕建团队利用Rollovesseller3D打印平台,以含种子细胞、生长因子和营养成分等组成的"生物墨汁",结合其他材料层层打印出产品,经打印后培育处理,形成有生理功能的组织结构;并发明生物打印的核心技术生物转的专利,即一种新型的精准的具有仿生功能的干细胞培养体系。国内生物3D打印技术发展迅速,已在细胞、器官、医疗植入体等多个应用领域发展。

4 生物3D打印技术的临床应用

4.1 人造骨骼

由于人体骨骼形态不规则,个体形态差异较大,因此,个性化定制人工骨骼在临床应用中有广泛的需求。瑞士伯恩塞尔医院的Weinand[16]领导的研究团队成功复制了他自己的拇指骨。比利时哈塞尔特大学BIOMED研究所利用激光辅助3 D打印技术为患者打印并移植了下颌骨[16-17]。南方医科大学黄华军等[18]收集临床复杂胫骨平台骨折病例以及常用胫骨平台钢板的CT数据,进行骨折三维重建、虚拟复位以及建立钢板三维模型库,然后进行内固定方案的数字化设计。3D打印出骨折复位模型以及钢板模型,在3D模型上按照数字化设计内固定方案进行模拟手术,结果显示3D打印技术结合数字化设计能有效的提高复杂胫骨平台骨折内固定植入效果。

4.2 人造血管

当代,随着心脑血管疾病的增多,临床上对血管移植物的需求日益突出。如今,利用生物3D打印技术可以方便快速地制造出可供移植的血管和血管修复材料。新加坡南洋理工大学的Leong等[19]试图利用选择

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201712.00600v1

性激光烧结制造血管支架结构,研究适合于SLS技术的聚合物及其成形结构的特性,提出了制造条件、制造精度、材料生物相容性和可重复性是3D打印技术的关键要素。又如,美国宾夕法尼亚大学Miller等[20]首先将碳水化合物玻璃打印成网格状模板,用浇注法复合载细胞水凝胶形成管道状血液通路。Lee等[21]制备了内径1 mm的3D打印水凝胶管道模型,成功诱导周围毛细血管形成了微血管床。德国的Gunter Tovar博士利用3D打印双光子聚合和生物功能化修饰制作出毛细血管,具有良好的弹性与人体相容性,不但可以用于替换坏死的血管还能与人造器官结合,还可能使构造的组织与器官实现再生血管[21]。

4.3 人造器官

2011年美国Wake Forest University的AnthonyAtala在TED大会上展示了3D打印肾脏的技术,至此,3D打印人造器官技术取得了长足的发展[22]。美国Organovo公司利用生物3D打印技术打印出人体肝脏薄片,微型肝脏只有0.5 mm厚、4 mm见方,却具有真正肝脏的大多数功能。杭州电子科技大学的徐铭恩教授团队自主成功研制出了可打印生物材料和活细胞的商品级3D打印机,目前已在这台打印机上成功打印出较小比例的人类耳朵软骨组织、肝单元等。肝小叶是肝结构和功能的基本单位,模仿肝小叶结构制备肝单元,是制造人工肝脏的关键步骤。

4.4 皮肤修复

研究者探索将不同细胞外基质应用于皮肤3D打印技术中,最大限度提升皮肤的活性及其他天然属性,从而有效促地进移植后受损皮肤的修复及打印皮肤与正常皮肤创缘的融合。在这方面,Baca等[22]采用多孔纳米生物材料模拟细胞外基质,证实该纳米生物材料可保持细胞的水分、渗透压、pH值等理化特性,并有效促进和维持细胞的生长。采用静电纺丝技术制成多层胶原支架,同时将人皮肤成纤维细胞和角朊细胞直接沉积在支架上,取得了良好的皮肤组织再生效果[23]。Hahn等[24]用光刻技术修饰融化凝胶模型的表面形状,将人真皮成纤维细胞加在凝胶内,将其打印在透明载体上,这样细胞只能黏附在暴露的或不被修饰的凝胶表面,继而实现让细胞在必要的区域生长。借此更好地控制打印出的皮肤组织块形态和结构,保证打印的皮肤组织与伤口皮肤缺损完全吻合,为临床中的个体化治疗奠定基础,并实现3D打印皮肤向转化医学的顺利过渡。

5 展望

抓住生物3D打印新一轮的发展契机,对发展我国生物3D打印技术的研究步入国际先进水平具有十分广阔的发展前景。目前,生物3D打印技术,机遇与挑战并存,如:单细胞、多种细胞、细胞团簇的受控三维空间输送、精准定位、排列与组装,以及生物制造过程中对细胞的损伤及生物功能的影响等。由于人体复杂的器官结构及功能的多样性,细胞与生物材料的特殊性,材料学、制造学、生物学等多交叉学科的合作及多喷头生物3D打印设备的应用,必将成为学科未来发展的趋势与主流,也是实现复杂器官制造的核心所在。在不远的将来随着研究的不断深入、各学科的整合与突破、诸多科学问题的逐一突破,生物 3D打印将会成为一种非常简单、容易、迅速的医疗技术,也将成为临床上最为准确、快捷、有效的修复手段,最终高效应用于临床,造福于患者。

参考文献:

[1] Mironov V, Reis N, Derby B. Review:bioprinting:a beginning[J]. Tissue Eng, 2006, 12(4): 631-4.
[2] 张洪宝, 胡大超. 生物3D打印的最新研究及应用[J]. 粉末冶金工业, 2015(4): 63-7.
[3] Mcgowan J. 3D printing technology speeds development[J]. Health Estate, 2013, 67(9): 100-2.
[3] 孙慕松, 宫俊霞, 宋文植. 3D打印技术在生物医学领域的应用[J]. 世界复合医学, 2015, 18(2): 115-9.
[5] 郭 鹏, 林慧宁, 姜光瑶, 等. 3D生物打印技术与器官移植[J]. 四川解剖学杂志, 2015, 23(2): 34-6.
[6] Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(8): 773-85.
[7] Kim SH, Lee SJ, Cho IS, et al. Rotational resistance of Surface-Treated mini-implants[J]. Angle Orthodontist, 2009, 79(5): 899-907.
[8] Sawkins MJ, Mistry P, Brown BN, et al. Cell and protein compatible 3D bioprinting of mechanically strong constructs for bone repair[J]. Biofabrication, 2015, 7(3): 35004.
[9] Kolesky DB, Truby RL, Gladman AS, et al. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous Cell-Laden tissue constructs[J]. Adv Materials, 2014, 26(19): 3124-30.
[10] Emerging frontiers in research and innovation 2010 (EFRI-2010). NSF, 2010, 7(11): 11-3.
[11] Lee VK, Lanzi AM, Ngo H, et al. Generation of multi-scale vascular network system within 3D hydrogel using 3D bio-printing technology[J]. Cell Mol Bioeng, 2014, 7(3): 460-72.
[12] Koch L, Deiwick A, Schlie S, et al. Skin tissue Generation by laser cell printing[J]. Biotech Bioeng, 2012, 109(7): 1855-63.
[13] 中国科技网. 我国自主研发出可打印人体细胞的3D打印机[J]. 黑龙江科技信息, 2013(23): -19--19.
[14] Hsieh F, Lin H, Hsu S. 3D bioprinting of neural stem cell-laden thermoresponsive biodegradable polyurethane hydrogel and potential in central nervous system repair[J]. Biomaterials, 2015, 71 (8): 48-57.
[15] 徐 弢. 3D打印技术在生物医学领域的应用[J]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2015(1): 57-8.

(下转62页)

ChinaXiv合作期刊

急性炎症产生，导致体内TNF-α和IL-1β等细胞因子升高[2]。细胞因子诱导中性粒细胞化学趋化因子在急性胰腺炎全身炎症反应中也发挥着重要作用[3]。心梗后患者体内细胞因子(TNF-a，IL-1，IL-6)升高，其中可溶性肿瘤坏死因子受体是急性心梗患者的主要死亡率及心衰发生的预报器之一[4]。

急性胰腺炎误诊为心绞痛或心肌梗死的病例报道甚多，但ACS并发急性胰腺炎却非常罕见。虽然ACS和急性胰腺炎在临床上属于两种独立疾病，但二者在某些情况下可产生相类似的症状、体征甚至心电图变化，仅比较症状及心电图不足以区分[5]，草率的诊断治疗可能导致严重的后果。本病例提示：心脏特异性生物学指标以及影像学可帮助评估判断病情及预后。通过冠脉造影检查、血管成形术和支架植入术治疗，尽可能小剂量的使用肝素，既能达到积极诊治ACS的目的，又可避免加重可能并发的急性胰腺炎症。

参考文献：

[1] 陈灏珠, 林果为. 实用内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 1650-3.

[2] Felder RB, Weiss RM, Zhang ZH, et al. Acute vagotomy activates the cholinergic anti-inflammatory pathway-Reply[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(2): H978-9.

[3] Bhatia M, Brody M, Zagorski J, et al. Treatment with neutralising antibody against cytokine inducedneutrophil chemoattractant(CINC) protects ratsagainst acute pancreatitis associated lung injury[J]. Gut, 2000, 47(6): 838-44.

[4] Valgimigli M, Ceconi C, Malagutti P, et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction-The cytokine-activation and long-term prognosis in myocardial infarction (C-ALPHA) study[J]. Circulation, 2005, 111 (7): 863-70.

[5] Wu CH, Wang KL, Lu TM. Perplexing epigastric Pain-Coincident myocardial infarction and acute pancreatitis[J]. Intern Med, 2010, 49(2): 149-53.

(上接46页)

[16] Weinand C, Gupta R, Weinberg E, et al. Toward regenerating a human thumb in situ[J]. Tissue Eng Part A, 2009, 15(9): 2605-15.

[17] Obregon F, Vaquette C, Ivanovski S, et al. Three-Dimensional bioprinting for regenerative dentistry and craniofacial tissue engineering[J]. J Dent Res, 2015, 94(9, 2): 143S-52S.

[18] 黄华军, 张国栋, 欧阳汉斌, 等. 基于3D打印技术的复杂胫骨平台骨折内固定手术数字化设计[J]. 南方医科大学学报, 2015(2): 218-22.

[19] Leong KF, Cheah CM, Chua CK. Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs[J]. Biomaterials, 2003, 24(13): 2363-78.

[20] Miller JS, Stevens KR, Yang MT, et al. Rapid casting of patterned vascular networks for perfusable engineered three-dimensional tissues[J]. Nat Mater, 2012, 11(9): 768-74.

[21] Engelhardt S, Hoch E, Borchers K, et al. Fabrication of 2D protein microstructures and 3D polymer-protein hybrid microstructures by two-photon polymerization[J]. Biofabrication, 2011, 3(2): 025003.

[22] Baca HK, Carnes EC, Ashley CE, et al. Cell-directed-assembly: Directing the formation of nano/bio interfaces and architectures with living cells[J]. Biochi Bioph Gen Sub, 2011, 1810(3, SI): 259-67.

[23] 杜 娟, 刘雪来. 3D生物打印技术在皮肤创面修复中的研究进展[J]. 中华创伤杂志, 2014, 30(10): 1063-6.

[24] Hahn MS, Taite LJ, Moon JJ, et al. Photolithographic patterning of polyethylene glycol hydrogels[J]. Biomaterials, 2006, 27(12): 2519-24.

chinaXiv:201712.00600v1